

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**SOROEPIDEMIOLOGIA DE *Neospora caninum* EM
CAPRINOS (*Capra hircus*) DO ESTADO DA PARAÍBA.**

Beatriz Maria de Almeida Braz

Médica veterinária

2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**SOROEPIDEMIOLOGIA DE *Neospora caninum* EM
CAPRINOS (*Capra hircus*) DO ESTADO DA PARAÍBA.**

Beatriz Maria de Almeida Braz

Orientador: Prof. Dr. Rafael Felipe da Costa Vieira

Coorientadores: Profa. Dra. Valeska Shelda Pessoa de Melo

Prof. Dr. Danilo Tancler Stipp

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Beatriz Maria de Almeida Braz

**SOROEPIDEMIOLOGIA DE *Neospora caninum* EM
CAPRINOS (*Capra hircus*) DO ESTADO DA PARAÍBA.**

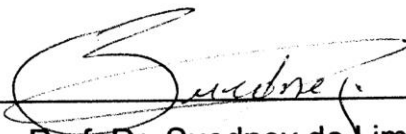
Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Ciência Animal do Centro de
Ciências Agrárias da Universidade
Federal da Paraíba, como parte
das exigências para a obtenção
do título de Mestre em Ciência
Animal. Área de Concentração
Saúde Animal do Brejo paraibano.

APROVADO EM 16/12/2015

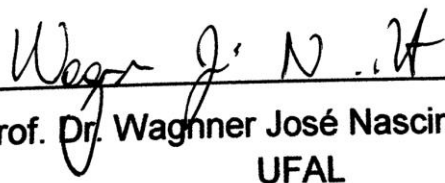
BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Valeska Shelda Pessoa de Melo
DCV/CCA/UFPB
Orientador



Prof. Dr. Suedney de Lima Silva
DCV/CCA/UFPB
Examinador



Prof. Dr. Wagner José Nascimento Porto
UFAL

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

BEATRIZ MARIA DE ALMEIDA BRAZ – Nascida em Cajueiro- Alagoas, em 26 de julho de 1989. Ingressou em 2004 na Escola Agrotécnica Federal de Satuba- AL, hoje Instituto Federal de Alagoas, recebendo o título de Técnica em Agropecuária (2006), é graduada em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Alagoas (2013), e em Março de 2014 ingressou no curso de mestrado no Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, da Universidade Federal da Paraíba.

DEDICATÓRIA

À minha mãe, que incansavelmente contribuiu financeira e psicologicamente para que eu concluísse este trabalho

Aos que assim como eu descobriram que é possível lidar com as dificuldades que surgem no caminho, e aos que buscam incentivos para continuar lutando pelos seus sonhos, por mais longa e árdua que seja a caminhada, e diversas vezes impossível **aos olhos do outro.**

Aos profissionais veterinários que descobriram o amor pela docência e que continuarão buscando-a.

AGRADECIMENTOS

Aos anjos de luz que me guiaram e intercederam por mim mediante a vontade e os desígnios de Deus.

Com todo amor e gratidão aos meus pais e irmãs, que apesar de todas as dificuldades não me deixaram desistir.

A meu sobrinho Túlio Victor, por me ensinar a amar como tia... Incondicionalmente.

Aos amigos Alagoanos, que estarão sempre em meu coração a qualquer distância e a qualquer tempo, Hanna C., Rafaela S., Jeferson P., Kaique D Daniela B. Fabiano B. e ao meu afilhado Arthur, que me acalma com seus abraços e sua doçura de criança.

À minha companheira de faculdade, de mestrado, de casa e de guerra, Laysa Cordeiro, por toda atenção, paciência, auxílio, carinho e ensinamentos.

Aos amigos que conquistei na pequena cidade de Areia, aos que me emprestaram música, móveis, aos que dividiram o teto, a mesa, o ombro, a família e o coração, que obviamente levarei para a vida. Foi sem dúvida a maior e melhor experiência que já tive. Harlan, Marília N. e Vanielly pela companhia, tours e dias felizes. Em especial à Regina N., por ter me incentivado desde o início a tentar e me recebeu em sua casa com todo apoio de uma amiga- irmã.

Aos companheiros de pesquisa, coletas e laboratório e aos estagiários do Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva- HV/UFB.

Aos que me ajudaram em várias etapas deste trabalho, em especial à Jéssica Valente, Carolina Angélica Libório e Iago Carvalho.

À minha co-orientadora Valeska Shelda Pessoa de Melo, por toda ajuda e ensinamentos durante o estágio a docência e no Laboratório, e a meu

orientador Rafael Felipe da Costa Vieira, por todo o empenho e puxões de orelha, que de maneira positiva me ensinaram a lidar com grandes responsabilidades e a trabalhar em grupo.

SUMÁRIO

Página

LISTA DE TABELAS	i
CAPÍTULO I	i
LISTA DE FIGURAS	ii
CONSIDERAÇÕES GERAIS	ii
CAPÍTULO I	ii
RESUMO GERAL	iii
ABSTRACT	iv
CONSIDERAÇÕES GERAIS	1
INTRODUÇÃO	1
1. AGENTE ETIOLÓGICO E MORFOLOGIA	2
2. CICLO BIOLÓGICO E TRANSMISSÃO	4
3. EPIDEMIOLOGIA	6
4. PATOGENIA E SINAIS CLÍNICOS	8
5. DIAGNÓSTICO	9
6. PREVENÇÃO E CONTROLE	10
CAPÍTULO I – SOROEPIDEMIOLOGIA DE <i>Neospora caninum</i> EM CAPRINOS (<i>Capra hircus</i>) DO ESTADO DA PARAÍBA	12
ABSTRACT	12
RESUMO	13
Introduction	13
Materials and Methods	14
Results	16
Discussion	16
References	17

CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	24
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	25

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Seroepidemiology of *Neospora caninum* in goats (*Capra hircus*) from Paraíba State.

Página

Table 1. Seroprevalence of <i>Neospora caninum</i> in eight different goat farms from Paraíba State, Northeastern Brasil and correspondent testing of risk factors.	21
--	----

LISTA DE FIGURAS

CONSIDERAÇÕES GERAIS

Página

Figura I: Ciclo de vida de *Neospora caninum*.5

CAPÍTULO I

Seroepidemiology of *Neospora caninum* in goats (*Capra hircus*) from Paraíba State.

Página

Figure 1. Geographical illustration of serologic occurrence of *Neospora caninum* in goats from Brazil based referenced data. Geographic Information System, Quantum GIS, Version 2.8 WIEN. 161x157mm (300 x 300 DPI).22

Figure 2. Geographical locations of farms (dairy and beef) used in the study and limits of the climate in Paraíba, Northeast, Brazil. 294x156mm (300 x 300 DPI). ...23

SOROEPIDEMIOLOGIA DE *Neospora caninum* EM CAPRINOS (*Capra hircus*) DO ESTADO DA PARAÍBA.

RESUMO GERAL – A neosporose, reconhecida como protozoose causada por *Neospora caninum*, está principalmente associada a casos de abortamentos e mortalidade neonatal em bovinos. No Brasil diferentes estudos enfocando este agente têm sido desenvolvidos, no entanto no Nordeste há pouca informação sobre esta enfermidade e seus impactos em rebanhos caprinos. O objetivo deste estudo foi pesquisar a soroprevalência de anticorpos anti- *N. caninum* em caprinos no estado da Paraíba. Foram coletadas 406 amostras de sangue de caprinos (35 machos e 371 fêmeas) provenientes de áreas rurais pertencentes a 8 propriedades distribuídas em sete Municípios do estado da Paraíba. Um total de 106/406 (26,11%; IC 95%: 21,96-30,72%) amostras foram soropositivas pela Reação de Imunofluorescência Indireta- RIFI, sendo considerados positivos soros com título \geq 1:50. Não houve associação significativa entre localidade, idade, sexo, presença de cães na propriedade, ocorrência de aborto e soropositividade para *N. caninum* ($p>0,05$). Assim, em decorrência desta alta prevalência, sugere-se que é comum a infecção em caprinos no estado da Paraíba, sendo de suma importância estudos freqüentes enfocando este protozoário, buscando estratégias de controle eficientes a partir da avaliação dos fatores de risco.

Palavras-chave: Ruminantes, Aborto, Neosporose, Rifi

SEROEPIDEMIOLOGY OF *Neospora caninum* IN GOATS (*Capra hircus*) FROM PARAÍBA STATE.

ABSTRACT – The neosporosis is recognized as a protozoan infection caused by *Neospora caninum*. It is primarily associated with cases of abortion and neonatal mortality in cattle. In Brazil, several studies focusing on this agent have been developed, however in the Northeast there are few studies about this disease and its impact on goat herds. The aim of this study was to investigate the prevalence of anti *N. caninum* antibodies in goats from Paraíba state. It was collected 406 goat blood samples (35 males and 371 females) from 8 different farms belonging to rural areas from Paraíba state. A total of 106/406 (26.11%; 95% CI 21.96 to 30.72%) were seropositive for indirect immunofluorescence antibody assay (IFA). It was considered positive Titers \geq 1:50. There was no significant association between location, age, gender, presence of dogs on the property, occurrence of abortion and seropositivity for *N. caninum* ($p > 0.05$). Thus, due to this high prevalence, it is suggested that this infection is common in goats in the State of Paraíba. Therefore studies about this protozoan are extremely important, seeking effective control strategies based on the assessment of risk factors.

Keywords: Ruminants, Abortion, Neosporosis, Ifat.

CONSIDERAÇÕES GERAIS

INTRODUÇÃO

Os caprinos desempenham um importante papel econômico em países em desenvolvimento, fornecendo importantes fontes de carne e leite (SOUZA NETO, 1996). Entre os países que mais produzem, a China destaca-se em termos de quantidade de carne de ovinos e caprinos, chegando a gerar 2 milhões de toneladas em 2004 (CONTINI e GASQUES, 2006).

Em 2011 a China manteve o mesmo percentual, seguido da Índia, Nigéria e Paquistão com aproximadamente 596, 292 e 285 mil toneladas respectivamente. Inferior a esses países encontra-se o Brasil na 28ª posição, produzindo 29.150 toneladas e a Argentina ocupando a 55ª posição no ranking dos países produtores de carne caprina, produzindo 9.900 toneladas (FAO, 2011).

O Brasil detém 1,3% do rebanho mundial, sendo o total de caprinos no Brasil de 8.779 milhões, demonstrando crescimento de 1,5% em relação ao número de cabeças em 2012. Cerca de 91,4% do efetivo localizado na Região Nordeste, 3,6% na Região Sul, 2,4%, no Sudeste, 1,6% no Norte, e apenas 1,0% na região Centro-Oeste do país. O estado da Bahia destaca-se como tendo maior rebanho (28,0%), seguido por Pernambuco (22,5%), Piauí (14,1%), Ceará (11,7%) e o estado da Paraíba (5,4%), que registrou um total de 478.083 cabeças de caprinos nesse mesmo ano (IBGE, 2013).

No entanto, o desenvolvimento da caprinocultura no Nordeste é severamente afetado por inúmeros fatores, dentre eles, a alta frequência de problemas sanitários, decorrentes principalmente do desenvolvimento de práticas de manejo inadequadas (PINHEIRO et al., 2000), além da utilização de baixos níveis de tecnologia, sendo na maioria das vezes desenvolvida de forma empírica e extensiva. A produtividade nas criações está ligada diretamente a eficácia reprodutiva desses animais, sendo o aborto e a mortalidade neonatal os maiores causadores de prejuízos econômicos nesta atividade (NOGUEIRA FILHO e KASPRZYKOWSK, 2006).

Entre as causas de distúrbios reprodutivos destacam-se as enfermidades causadas por microorganismos, dentre eles as bactérias e os vírus, e, por conseguinte os protozoários, destacando-se *Toxoplasma gondii* causador da toxoplasmose e *Neospora caninum* da neosporose, uma protozoose. Esse agente é um importante parasito intracelular obrigatório que até o ano de 1988 foi diagnosticado equivocadamente como sendo *Toxoplasma gondii*, reconhecido primeiramente em 1984 em cães na Noruega, mas descrito apenas em 1988 por Dubey e colaboradores (DUBEY et al.,2002).

A doença é descrita principalmente associada a casos de abortos e mortalidade neonatal em bovinos. O agente causador é considerado um dos patógenos mais eficientemente transmitidos pela via transplacentária nessa espécie (DUBEY, 2003).

Possui uma gama de hospedeiros e é muito semelhante em estrutura e ciclo de vida ao *T. gondii*, com duas diferenças importantes: a toxoplasmose é uma zoonose, causando doença em humanos também, e os felídeos desempenham o papel de hospedeiros definitivos, já a neosporose é uma doença que acomete principalmente bovinos, e os canídeos atuam como hospedeiros definitivos(DUBEY et al.,2007).

Devido a poucos estudos enfocando esse agente nas criações de caprinos no Estado da Paraíba, este que é responsável por causar problemas reprodutivos que desencadeiam aborto e infertilidade gerando grandes perdas econômicas neste setor, objetivou-se realizar um estudo soroepidemiológico de *Neospora caninum* em caprinos (*Capra hircus*) do Estado da Paraíba.

1. AGENTE ETIOLÓGICO E MORFOLOGIA

Neospora caninum é um protozoário, pertencente ao Filo Apicomplexa e família Sarcocystidae, igualmente aos gêneros *Toxoplasma*, *Sarcocystis*, *Hammondia* e *Besnoitia* (DUBEY et al., 2007; DUBEY e SCHARES, 2011). Segundo Dubey (2003) *N. caninum* ganhou importância por ser um protozoário causador de doença reprodutiva em bovinos e cães em todo o mundo, bem como sendo relatado como causador da doença também em ovelhas, cabras, veados, rinocerontes e

cavalos, e anticorpos para este agente foram encontrados no soro de búfalos, raposas vermelha e cinza, coiotes, camelos e felídeos.

O agente apresenta três formas infectantes: taquizoítos, cistos teciduais, e oocistos. Os taquizoítos assim como os cistos teciduais são encontrados nos hospedeiros intermediários e ocorrem no meio intracelular (DUBEY *et al.*, 2002), podendo estar presente em vários tipos de células (INNES *et al.*, 2001). Os três estágios infecciosos de *N. caninum* podem estar envolvidos na transmissão do parasita (DUBEY, *et al.*, 2007). Os taquizoítos medem cerca de 3-7 x 1-5µm e dependendo da fase em que se encontrem, podem ser ovóides, lunares ou globulares (GONDIM *et al.*, 2001; LINDSAY *et al.*, 1999; MCALLISTER *et al.*, 1998).

De acordo com Innes *et al.* (2001) essa forma infectante multiplica-se rapidamente, e se divide por endodiogenia, provocando lise celular e infectando novas células. Os taquizoítos podem ser encontrados em diferentes tecidos infectados, células do sistema nervoso central, macrófagos, fibroblastos, células endoteliais, miócitos, células tubulares renais, e hepatócitos (DUBEY; LINDSAY, 1996). Quando taquizoítos são encontrados no hospedeiro, a infecção é caracterizada como aguda ou proliferativa, após o hospedeiro desenvolver a resposta imune, estes se transformam em bradizoítos, que podem ser reativados quando há queda na imunidade do hospedeiro (WOUDA *et al.*, 1999).

Os bradizoítos se multiplicam lentamente, e tanto eles quanto taquizoítos são resultantes da fase assexuada do parasita, medem aproximadamente 8 x 2µm e apresentam as mesmas organelas encontradas nos taquizoítos, porém com vesículas menores, sendo também capazes de formar cistos no interior dos tecidos (GONDIM *et al.*, 2001).

Os cistos teciduais podem apresentar uma membrana cística que os protegem das reações do hospedeiro, tanto imunológicas quanto fisiológicas. São arredondados ou ovais, com parede de até 4µm de espessura (FUCHS *et al.*, 1998).

Outra forma de apresentação do parasita são os oocistos que representam o estágio de resistência no ambiente, são excretados não esporulados nas fezes de cães e coiotes (GONDIM *et al.*, 2001) e apresentam de 0,6 a 0,8µm de espessura e 11,7 x 11,3µm de tamanho (DUBEY *et al.*, 2002). Esporulam fora do hospedeiro em aproximadamente 24 às 72hs, e quando esporulados, a forma infectante possui dois

esporocistos com quatro esporozoítos em cada um (LINDSAY et al., 1999). Os esporozoítos são alongados, possuem geralmente 6,5 x 2,0µm de tamanho e são resultantes da multiplicação sexuada que ocorre no epitélio intestinal dos hospedeiros definitivos (DUBEY et al., 2002),

Os oocistos de *N. caninum* têm morfologia semelhante aos de outros coccídeos, como *T. gondii* e *Hammondia hammondi* encontrados em fezes de gato, bem como assemelham-se a oocistos de *H. heydorni* presentes nas fezes de cães infectados (DUBEY et al., 2002), por isso é epidemiologicamente importante identificá-los corretamente (SOARES et al., 2011). Segundo Dubey (2004), devido às semelhanças de *N. caninum* com *T. gondii*, é provável que o tempo de resistência de oocistos de ambos seja também semelhante quando eliminado no meio ambiente.

2. CICLO BIOLÓGICO E TRANSMISSÃO

O ciclo biológico ocorre mediante a participação de dois hospedeiros, um hospedeiro definitivo onde ocorre a fase sexuada e um hospedeiro intermediário em que ocorre a fase assexuada da infecção, caracterizando um ciclo heteroxeno (DUBEY et al., 2002).

Os hospedeiros definitivos são os canídeos, sendo até então comprovadas quatro espécies, cães (*Canis familiaris*) (MacALLISTER et al., 1998), coiotes (*Canis latrans*) (GONDIM et al. 2004), o dingo australiano (*Canis lupus dingo*) (KING et al., 2010) e o lobo cinzento (*Canis lupus*) (DUBEY et al., 2011).

A confirmação de que o cão atua como hospedeiro definitivo veio depois de alimentação experimental com cistos contidos em cérebro de camundongo infectado, seguida da eliminação de oocistos nas fezes (McALLISTER et al., 1998). Basso et al. (2001) confirmaram posteriormente infecção natural de cães. Segundo Gondim et al. (2004), bovinos, cães, ovinos, caprinos, eqüídeos e cervídeos atuam como hospedeiros intermediários.

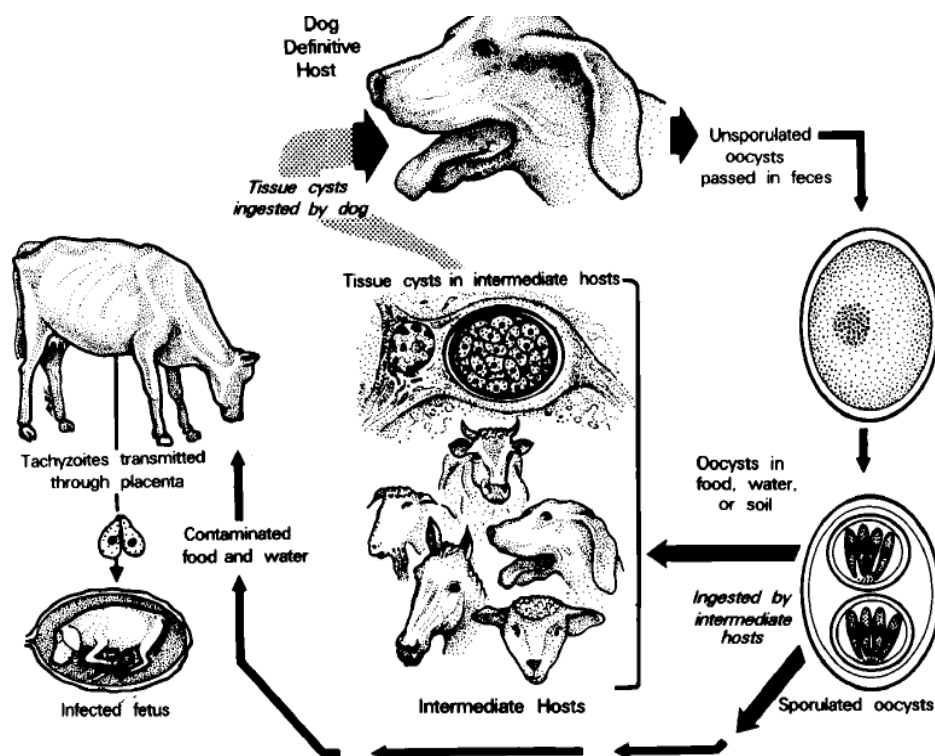


Figura I: Ciclo de vida de *Neospora caninum*.

Fonte: DUBEY, 1999.

O hospedeiro definitivo adquire a infecção após a ingestão dos cistos tachizoítos ou bradizoítos de placentas, membranas fetais ou tecidos de fetos abortados, presentes no hospedeiro intermediário, caracterizando a fase sexuada do ciclo do parasita no intestino desses animais, também chamado de ciclo entero-epitelial, e conseqüentemente eliminam oocistos não esporulados ou não infectantes nas fezes, que no meio ambiente tornam-se esporulados após algumas horas (DUBEY et al., 2002).

Os hospedeiros intermediários adquirem a infecção quando ingerem oocistos esporulados presentes em água ou alimento, a este modo de transmissão deu-se o nome de horizontal ou pós-natal. Quando ingeridos os oocistos esporulados, os esporozoítos presentes em seu interior desencistam e migram para os tecidos, provocando infecção sistêmica, principalmente no tecido cerebral, e mesmo em estado de latência após formação dos bradizoítos, se ingerido pelo cão ainda pode tornar-se infectante (DUBEY et al., 2002).

A gestação é tida como outra forma do hospedeiro intermediário adquirir infecção, esse tipo de transmissão foi comprovado em bovinos, ovinos, caprinos, felinos e macacos (DAVIDSON et al., 1999), e é considerada a principal maneira de *N. caninum* se disseminar e ser mantido em rebanhos bovinos (ANDERSON et al., 1997), o que segundo Dubey et al. (1992), traz como consequência animais clinicamente saudáveis mas cronicamente infectados.

Trees e Willians (2005) defendem o uso da denominação infecção transplacentária endógena e infecção transplacentária exógena, para descrever respectivamente a infecção transplacentária crônica e pré-existente reativada numa fêmea prenhe, causando abortos esporádicos ou endêmicos, e a forma primária resultante da infecção da fêmea durante a prenhez, causando abortos epidêmicos; e apesar de ambos os modos de transmissão provocar os mesmos danos, as consequências epidemiológicas, imunológicas e de controle são distintas

3. EPIDEMIOLOGIA

São poucos os estudos de prevalência de *N. caninum* em caprinos no Brasil, mas nos últimos dez anos, foram realizados inquéritos investigando-o nessa espécie na região sudeste, sul e nordeste.

Em São Paulo, um estudo revelou 6,4% (25/394) de animais positivos através da RIFI numa diluição de 1:50, não encontrando associação entre prevalência e idade, mesmo sendo o percentual de infectados maior em animais mais velhos levando a considerar que a transmissão vertical é mais freqüente em caprinos (FIGLIUOLO et al., 2004).

Também em São Paulo, com o objetivo de se avaliar a freqüência em caprinos leiteiros acima de três meses, através do Teste de aglutinação para *Neospora*, verificou-se uma prevalência de 17,44% (161/923), encontrando associações entre idade, sexo, problemas reprodutivos e presença de cães. Em 10 dos 17 capris estudados, cães coabitavam com os caprinos, reforçando a importância epidemiológica desses na transmissão de *N. caninum*. Ainda nesse Estado, em estudo feito em fazendas de caprinos leiteiros verificaram 17,23% (159/923) de animais positivos através do mesmo teste, mas não foi encontrada

associação com esse resultado e falhas reprodutivas (MODOLO et al., 2008; COSTA et al., 2012).

Em Minas Gerais, 11,4% (76/667) dos caprinos de criações leiteiras foram positivos utilizando a RIFI num *cut off* de 1:50. Além disso, 70,7% das criações apresentavam pastejo contínuo e 77,5% dos rebanhos utilizavam a monta natural, sugerindo que a não utilização de rotação de pastejo e de manejo reprodutivo adequado são importantes fatores de risco para a ocorrência da infecção (ANDRADE et al., 2013).

Em Santa Catarina, em estudo realizado em criações de caprinos leiteiros e de corte, 4,59% (30/654) dos animais foram soropositivos, utilizando a mesma técnica e ponto de corte. A maioria das fazendas era de tamanho pequeno, favorecendo a disseminação de oocistos em todo o ambiente, e havia íntimo contato com cães. Não houve investigação do local de armazenagem de alimentos neste estudo, o que configuraria um importante fator de risco (TOPAZIO et al., 2014).

No Nordeste foram desenvolvidos trabalhos em Alagoas, revelando 5,3% (24/454) de positividade em animais de aptidões mistas, também utilizando a técnica já citada, onde o sistema de manejo extensivo apresentou maior prevalência (16,7%), quando comparado aos manejos intensivo (5%) e semi-intensivo (2,9%) (ANDERLINI et al., 2011).

Em estudo feito em caprinos de matadouros do município de Patos na Paraíba utilizando RIFI com ponto de corte de 1:50, confirmou-se 3,3% (10/306) de soropositivos, provavelmente devido ao clima quente e seco dessa região, já que os oocistos dependem de umidade favorável para se manter viáveis no solo, não havendo associação entre prevalência e idade. No entanto, em Pernambuco registraram 26,6% (85/319), através da mesma técnica, demonstrando a ocorrência dessa associação, havendo maior prevalência em animais mais velhos e a presença de cães em 81,3% das fazendas (FARIA et al., 2007; TEMBUE et al., 2011).

No Rio Grande do Norte, utilizando RIFI com ponto de corte na diluição de 1:50, revelou-se uma prevalência de 1,05% (4 /381), não havendo associação entre sexo, prevalência e problemas reprodutivos. Em 50% das propriedades foi observada a ingestão de placenta pelos cães, favorecendo a manutenção do agente na propriedade através da infecção do hospedeiro definitivo. Na Bahia, 15% (58/384)

dos caprinos leiteiros analisados foram positivos para esse teste, as condições ambientais dos rebanhos pareciam propiciar a transmissão, e em todas as propriedades os cães tinham livre acesso a fontes de alimentos dos caprinos (LIMA et al., 2008; UZÊDA et al., 2007).

Nesse mesmo estado, 1,9% (2/102) de caprinos de abatedouros foi positivo, utilizando nested PCR. A baixa prevalência pode estar relacionada a fatores climáticos que interferiram negativamente na sobrevivência de oocistos no solo, além da alta especificidade do teste utilizado. No Maranhão 17,39% (8/46) de caprinos destinados à produção de carne apresentaram anticorpos contra *N. caninum*, utilizando RIFI com um ponto de corte de 1:25, não havendo associação entre a prevalência encontrada e a presença de cães. Os animais desse estudo eram restrito a áreas menores e consequente maior densidade, facilitando o acesso de cães a carcaças de animais infectados, fetos abortados, placentas e restos placentários (SILVA et al., 2009; MORAES et al., 2011).

4. PATOGENIA E SINAIS CLÍNICOS

Mesmo sendo muito estudada em bovinos, a neosporose não tem sua patogenia totalmente elucidada, de acordo com Hemphill et al. (1996) o parasita reconhece a célula hospedeira através das proteínas receptoras, e ao entrarem nesta são englobados pelo vacúolo parasitóforo. Em seguida, os taquizoítos se multiplicam por endodiogenia, produzindo novos parasitas (HEMPHILL et al., 1999).

Segundo Fuchs et al. (1998) o vacúolo se desintegra após o desenvolvimento do parasita, ocorre a lise celular, onde os taquizoítos voltam a infectar novas células e se transformam em bradizoítos, caracterizando a infecção latente, formando cistos teciduais e persistindo por anos sem provocar sinais clínicos.

O principal e mais evidente sinal clínico da neosporose em vacas adultas é o aborto, principalmente no segundo terço da gestação, entre o quinto e sexto mês, podendo ocorrer em qualquer fase gestacional (DUBEY, 2003). A partir do terceiro mês; o feto pode morrer ser reabsorvido, mumificado, autolisado, natimorto, nascer vivo, mas doente, ou nascer clinicamente normal, mas cronicamente infectado (DUBEY, 1999).

As lesões mais características são a encefalite focal, necrose e inflamação não supurativa. São determinadas pelo período de infecção placentária e fetal durante a gestação, sendo evidenciado em estudos experimentais que quanto mais cedo ocorrer a parasitemia durante a gestação, mais graves serão as conseqüências para o feto (BARR et al., 1991).

Segundo Dubey (1999), bezerros infectados podem nascer abaixo do peso e com sinais neurológicos diversos. Membros anteriores e/ou posteriores podem ser flexionados ou hiper-estendidos e o exame neurológico pode revelar ataxia, diminuição dos reflexos patelares e perda de consciência de propriocepção, exoftalmia ou uma aparência assimétrica dos olhos.

De acordo com um estudo feito por Dubey et al. (2003) até 95% dos bezerros nascidos infectados congenitamente permanecem clinicamente normais. A taxa de infecção congênita não é influenciada pela idade da fêmea, número de lactações ou histórico de aborto, mas alguns estudos afirmam que a transmissão vertical é mais eficiente em vacas mais jovens do que em vacas mais velhas (DUBEY et al., 2003).

5. DIAGNÓSTICO

Segundo Dubey e Schares (2006), o diagnóstico de neosporose pode ser realizado utilizando métodos diretos, como as técnicas histológicas, imuno-histoquímica, e métodos indiretos como diversas técnicas sorológicas e provas moleculares, como a reação em cadeia da polimerase (PCR). Gottstain et al. (1998) confirmaram que a técnica de PCR associada à sorologia diferencia com precisão a infecção por *N. caninum* e *T. gondii*

De acordo com Anderson et al. (1995) os métodos indiretos referem-se à resposta imune humoral do hospedeiro contra anticorpos específicos de determinado parasita, presentes no soro ou em outros fluidos corporais. Entre estes métodos estão a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), Immunoblotting, teste de aglutinação direta (DAT), aglutinação em látex, e aglutinação direta modificada (MAD) (PARÉ et al., 1995).

Esses testes têm grande importância, pois distinguem as diferentes espécies pertencentes ao filo *Apicomplexa* (DUBEY e LINDSAY, 1996), além de serem

utilizados para determinar epidemias de abortos em casos de Neosporose induzida em vacas, bem como para estudar a transmissão pré e pós-natal (THURMOND, 1997).

Atkinson et al. (2000) afirmam que a técnica de Immunoblotting é preferencialmente utilizada como teste confirmatório. O teste de aglutinação direta possui sensibilidade e especificidade semelhantes ao teste de aglutinação em látex, sendo este de fácil e rápida aplicação a campo (GHALMI et al., 2014).

Segundo Dubey et al. (1988), a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) foi o primeiro teste sorológico utilizado para detectar anticorpos contra *N. caninum*, e já foi usado em diversas espécies animais. É realizado a partir da fixação de taquizoítos de *N. caninum* em placa, que são incubados com o soro teste diluídos, e em seguida esses anticorpos recebem o marcador fluoresceína e um anticorpo secundário (conjugado espécie-específico) que agirá contra imunoglobulinas do soro investigado, a reação é avaliada em microscópio de fluorescência, onde resultados positivos são observados quando há fluorescência total e ininterrupta dos taquizoítos (BJÖRKMAN e UGGLA, 1999).

De acordo com Dubey e Lindsay (1996), vários inquéritos sorológicos utilizando a RIFI para pesquisar anticorpos anti-*N. caninum* revelaram poucas reações cruzadas com outros parasitas coccídeos; e por isso este é considerado um teste de referência na pesquisa deste agente. Pode ser usada tanto na fase aguda (pesquisa de IgM) quanto na fase crônica (pesquisa de IgG) ((BJÖRKMAN e UGGLA, 1999; DUBEY, 2011), e são relativamente poucas as desvantagens da técnica; requer sensibilidade e experiência para diferenciar amostras negativas e positivas, além de microscópio de epifluorescência e cultivo celular (GHALMI et al., 2014).

6. PREVENÇÃO E CONTROLE

A prevenção de *N. caninum* em rebanhos deve ser feita através de medidas de biossegurança, com o intuito de evitar a propagação do agente e diminuir os riscos de novas infecções.

Já em rebanhos sabidamente infectados o controle da transmissão vertical é a principal medida, a partir da redução do número de animais soropositivos, e da

transmissão horizontal, controlando o acesso da população de hospedeiros definitivos a áreas de armazenagem de alimentos, a comedouros, bebedouros e a tecidos infectados de hospedeiros intermediários, como restos placentários, abortos, entre outros (HADDAD et al., 2005).

Outra forma de controle do agente é a substituição de animais infectados por animais com no mínimo dois resultados negativos para este agente, ter conhecimento do histórico reprodutivo do rebanho, além de realizar análise soropidemiológica e confirmação sorológica em duas coletas em datas distintas (DUBEY, 2003), já que a transmissão vertical de *N. caninum* principalmente em bovinos é a forma mais importante de manutenção do agente infeccioso dentro do rebanho, e conseqüente transmissão para o hospedeiro definitivo através do hábito do carnivorismo (DUBEY et al., 2007). Andrade (2013) afirma que não há uma vacina eficaz que atue na prevenção da neosporose, e que as vacinas inativadas criadas previnem a transmissão vertical, no entanto não é sabida a eficiência em prevenir abortos.

CAPÍTULO I – SOROEPIDEMIOLOGIA DE *Neospora caninum* EM CAPRINOS (*Capra hircus*) DO ESTADO DA PARAÍBA.

ARTIGO A SER SUBMETIDO PARA A REVISTA BRASILEIRA DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA

Seroepidemiology of *Neospora caninum* in goats (*Capra hircus*) from Paraíba State, Northeastern Brazil

Seroepidemiologia de *Neospora caninum* em caprinos (*Capra hircus*) do Estado da Paraíba, Nordeste do Brasil

ABSTRACT

Although *Neospora caninum* has been reportedly implicated in worldwide livestock losses, seroepidemiology and reproductive impact on goat production remains to be fully established in Brazil. Accordingly, this study has aimed to establish the seroprevalence and potential risk factors of *N. caninum* in 406 blood samples from five beef and three dairy goat farms from Paraíba State, Northeastern Brazil. Anti-*N. caninum* antibodies detection was performed by indirect immunofluorescence antibody assay (IFA), resulting in 106/406 (26.11%; 95% CI: 21.96-30.72%) seroreactive goats, ranging from 2/61 (3.28%), 10/45 (22.22%), 13/50 (26.00%), 17/51 (33.33%) to 29/46 (63.04%) in dairy farms and from 3/54 (5.56%), 12/50 (24.00%) to 20/49 (40.82%) in beef farms. No significant associations were found between age, gender, dairy versus beef farms, and occurrence of abortions or mummified fetuses and seroreactivity for *N. caninum* ($p>0.05$). However, some goat farms were significantly different among each other. In conclusion, local factors and other in-farm conditions may play an important role on *N. caninum* seropositivity of goat farms. Moreover, goat farms of Paraíba State have shown the highest seroprevalence of *N. caninum* to date in Brazil and worldwide.

Keywords: Neosporosis, small ruminants, IFA, seroprevalence.

RESUMO

Embora *Neospora caninum* tenha sido implicado em perdas na criação de animais de produção em todo o mundo, o impacto reprodutivo na produção de caprinos ainda não está completamente estabelecido no Brasil. Desta forma, este estudo teve por objetivo estabelecer a soroprevalência de *N. caninum* e seus fatores de risco em 406 amostras de sangue de cinco fazendas de corte e três de leite provenientes do Estado da Paraíba, Região Nordeste do Brasil. A detecção de anticorpos anti-*N. caninum* foi realizada utilizando a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) resultando num total de 106/406 (26,11%; IC 95%: 21,96-30,72%) caprinos sororeagentes, variando de 2/61 (3,28%), 10/45 (22,22%), 13/50 (26,00%), 17/51 (33,33%) a 29/46 (63,04%) em fazendas de leite e de 3/54 (5,56%), 12/50 (24,00%) a 20/49 (40,82%) em fazendas de corte. Não foram observadas associações significativas entre idade, sexo, criação de leite e carne, ocorrência de abortamentos ou fetos mumificados e sororeatividade para *N. caninum* ($p>0,05$). Entretanto, as fazendas de caprinos foram individual e significativamente diferentes entre si. Em conclusão, condições sanitárias intra-fazenda podem ter papel importante na soropositividade para *N. caninum* na produção de caprinos. Além disso, fazendas de caprinos da Paraíba mostraram as mais altas prevalências de *N. caninum* até o momento no Brasil e no mundo.

Palavras-chave: Neosporose, pequenos ruminantes, RIFI, soroprevalência.

Introduction

Neospora caninum is an obligate intracellular parasite which infection has been reportedly implicated in worldwide livestock losses, causing reproductive problems such as abortion and infertility in several species, including goats (DUBEY et al., 1996; MOORE, 2005). Since Brazilian goat farms have been mostly (90.10%) located on Northeastern Brazil (IBGE, 2013), which has historically reported sanitary problems due to inappropriate management practices (PINHEIRO et al., 2000), identification of causative agents of reproductive losses may be crucial for beef and dairy goat production.

A series of reports have been published worldwide on the presence of infected goats with *N. caninum*, with the highest prevalence found in Argentina 5/25 (20.0%) from aborted tissues (UNZANGA et al., 2014) and Slovakia with 18/116 (15.5%) by serology and PCR (COBADIOVA et al., 2013). Spain came next with 3/26 (11.5%) by PCR (MORENO et al., 2012) and 30/531 (5.6%) by serology (GARCIA-BOCANEGRA, 2012) from aborted fetuses,

followed by Poland with 95/1060 (9.0%) by ELISA and IFA (CZOPOWICZ et al., 2011), and Pakistan with 12/142 (8.6%) by ELISA (NASIR et al., 2012), China with 47/650 (7.23%) by IFA and ELISA (LIU et al., 2015), and in Greece dairy herd with 26/375 (6.9%) (DIAKOUA et al., 2013). Finally, the lowest prevalence values by ELISA were found in Romania with 12/512 (2.3%) (IOVU et al., 2012) and in Jordan with 2.0% (ABO-SHEHADA, ABU-HALAWEH, 2010).

In Brazil, several States have reported anti-*N. caninum* antibodies in goats. Seroprevalence data ranged from 4/381 (1.05%) in Rio Grande do Norte (LIMA et al., 2008), 2/102 (1.96%) in beef farms of Bahia (SILVA et al., 2009), 10/306 (3.30%) in beef farms of Paraíba (FARIA et al., 2007), 30/654 (4.59%) in beef-dairy farms of Santa Catarina (TOPAZIO et al., 2014), 24/454 (5.30%) in Alagoas (ANDERLINI et al., 2011), 25/394 (6.40%) in São Paulo (FIGLIUOLO et al., 2004), 43/401 (10.70%) (VARASCHIN et al., 2011) and 71/667 (10.70%) in dairy farms of Minas Gerais (ANDRADE et al., 2013), 58/384 (15.10%) in dairy farms of Bahia (UZÊDA et al., 2007), 161/923 (17.44%) in dairy farms of São Paulo (MODOLO et al., 2008; COSTA et al., 2012), 8/46 (17.39%) in beef farms of Maranhão (MORAES et al., 2011) and 85/319 (26.60%) in Pernambuco (TEMBUE et al., 2011) (Figure 1).

Interestingly, with exception of Maranhão State, dairy farms in Brazil may have more likelihood to infection when compared to beef farms, probably due to the longer lifetime of dairy herds into the farm. Despite seroprevalence data, risk factors evaluation on a representative population remains to be fully established in Brazil. Accordingly, this study has aimed to evaluate the seroprevalence and potential risk factors associated with anti-*N. caninum* antibodies in beef and dairy goats from Paraíba State, Northeastern Brazil.

Materials and Methods

Ethical principles

This study has been approved by the Ethics Committee in Animal Experimentation and Animal Welfare at the Universidade Federal da Paraíba, Northeastern Brazil (protocol 3305/14).

Samples

The sample size was calculated as previously described (THRUSFIELD, 1995), with total number of goats in Paraíba State estimated at 478.000 (IBGE, 2013) and assumed an expected prevalence of 50%. The minimum sample size required for detecting a difference with 95% confidence level at 5% was estimated as $n = 384$. A total of 406 goat blood samples (35 males and 371 females) were collected from five dairy and three beef farms of Paraíba State. Dairy farms were located at the following cities Algodão de Jandaíra (6° 53.531' S 35° 59.096' W), Caturité I (7° 24.562' S 36° 0.096' W), Caturité II (07° 23.261' S 36° 03.878' W), Gurjão (7° 14.747' S 36° 33.084' W), and Serra Branca (7° 29.259' S 36° 42.335' W), while the beef farms were located at Cuité (6° 38.356' S 36° 09.733' W), Juarez Távora (7° 09.437' S 35° 36.051' W), and Olivedos (06° 53.039' S 36° 13.923' W) (Figure 2).

Sampling

Blood samples were collected using commercial tubes containing separating gel clots (BD Vacutainer®, Franklin Lakes, NJ USA), kept in room temperature (25°C) until the visible clot retraction. The samples were centrifuged at 1500g per 5min, the serum was separated, appropriately aliquoted, identified and stored at -20°C.

Farm owners answered to an epidemiological questionnaire, which included goat gender and age, abortions and mummified fetuses and presence of dogs. Goat ages were stratified into groups of ≤ 1 year and > 1 year. The beef farm at Juarez Távora presented high quality management practices and was considered as reference farm for statistical comparison.

Detection of anti-*N. caninum* antibodies

The indirect immunofluorescence antibody assay (IFA) was applied to detect antibodies anti-*N. caninum* using a commercial kit (Imunoteste Neospora (RIFI) - caprino, Imunodot®, Jaboticabal, São Paulo, Brasil), according to manufacturer's instructions, except for using rabbit anti-Goat IgG-FITC conjugated as secondary antibody. Samples were considered positive when the tachyzoites showed total peripheral fluorescence at 1:50 dilution (DUBEY et al., 1988).

Statistical analysis

The Chi-square or Fisher's exact test was used to determine whether evaluated factors were associated with seropositivity to *N. caninum*. Odds ratio (OR), 95% confidence interval, and *P* values were calculated separately for each variable. Results were considered significantly different when $p < 0.05$. Data was generated and analyzed in a freely available software (Epi Info™ 7.5.1.0, CDC, Atlanta, USA).

Results

A total of 106/406 (26.11%; 95% CI: 21.96-30.72%) goats were seroreactive for *N. caninum*. All farms had at least one *N. caninum* seropositive animal. With exception of the dairy farm at Serra Branca, goats from all remaining farms were more likely to be seroreactive for *N. caninum* than those from beef farm at Juarez Távora. No association between seropositivity to *N. caninum* and gender ($p=0.12$), age ($p=0.5881$), the occurrence of abortions ($p=0.2090$) or mummified fetuses ($p=0.9851$) was observed. All farms reported the presence of dogs. The seroprevalence of *N. caninum* within each variable evaluated are summarized in Table 1.

Discussion

In the present study, an overall seroprevalence of 26.11% (from 3.28% to 63.04%) for *N. caninum* was found in goats from Paraíba State, within previous Brazilian studies in goats ranging from 1.05% to 26.6% (FARIA et al. 2007; UZÊDA et al., 2007; LIMA et al., 2008; ANDERLINI et al., 2011; TEMBUE et al., 2011; MORAES et al., 2011). Differences may be mainly due to the type of population and sample size, management system, diagnostic method and the respective cut-off used, and climatic variances. However, to the author's knowledge, some goat farms individually surveyed herein at Paraíba State have presented the highest prevalence when compared to previous studies in Brazil and worldwide.

Although previous studies have described that age (TEMBUE et al., 2011) and gender (UZÊDA et al., 2007) were associated to seropositivity for *N. caninum*, neither age nor gender were associated with seroreactivity in the present study. Despite approximately 25% of goats presenting aborted or mummified fetuses, no association with seroreactivity to *N. caninum*

was observed. Thus, other infectious (and non-infectious) agents may lead to similar reproductive problems, particularly *Toxoplasma gondii*, and should be further investigated.

Interestingly, two different dairy farms in the same area (Caturité I and II) have shown similar serology for *N. caninum*, 33.33% and 26.00% respectively, with no statistical differences ($p=0.42002$). In addition, the two farms with the highest prevalence, a beef farm from Cuité (40.82%) and a dairy farm from Algodão (63.04%) were located in nearby cities, far 31 miles to each other (Figure 2). No statistical differences were observed between dairy and beef farms ($p=0.32725$), however the intra-group variation between dairy (3.28%, 22.22%, 26.00%, 33.33% and 63.04%) and beef (5.56%, 24.00% and 40.82%) farms may have impaired statistical comparisons. Therefore, other risk factors not covered in the present study may have accounted for such seropositivity discrepancy. To the author's knowledge, no study to date has been focused on comparisons between dairy and beef farms and should be further addressed.

In conclusion, local factors and other in-farm conditions may play an important role on *N. caninum* seropositivity of goat farms. Regardless, goat farms of Paraíba State have shown the highest seroprevalence of *N. caninum* to date in Brazil and worldwide.

Acknowledgements

This study was part of a Master's degree for Beatriz Braz at the Universidade Federal da Paraíba. Beatriz Braz and Carolina Machado were sponsored by a fellowship from the *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior* (CAPES) at the time of the study. We thank Laysa Cordeiro and Luana Ribeiro for their assistance during blood sampling.

References

- Abo-Shehadeh MN, Abu-Halaweh MM. Flock-level seroprevalence of, and risk factors for, *Neospora caninum* among sheep and goats in northern Jordan. *Prev Vet Med* 2010; 93(1): 25-32.
- Anderlini GA, Faria EBF, Silva AM, Pinheiro Júnior JW, Valença RMB, Anderlini GPOS, et al. Prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em caprinos no estado de Alagoas, Brasil. *Vet Zootec* 2011; 18(4): 583-590.

Andrade Gda S, Bruhn FR, Rocha CM, de Sá Guimarães A, Gouveia AM, Guimarães AM. Seroprevalence for *Neospora caninum* in goats of Minas Gerais state, Brazil. *Res Vet Sci* 2013; 94(3): 584-6.

Cobadiova A, Reiterova K, Derdakova M, Spilovska S, Turcekova L, Hviscova I et al. *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* and tick-transmitted bacterium *Anaplasma phagocytophilum* infections in one selected goat farm in Slovakia. *Acta Parasitol* 2013; 58(4): 541-6.

Costa HF, Stachissini AVM, Langoni H, Padovani CR, Gennari SM, Modolo JR. Reproductive failures associated with antibodies against caprine arthritis-encephalitis virus, *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in goats in the state of Sao Paulo, Brazil. *Braz J Vet Res Anim Sci* 2012; 49(1): 67-72.

Czopowicz M, Kaba J, Szaluś-Jordanow O, Nowicki M, Witkowski L, Frymus T. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in goats in Poland. *Vet Parasitol* 2011; 178(3-4): 339-41.

Diakoua A, Papadopoulos E, Panousis N, Karatzias C, Giadinis N. *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* seroprevalence in dairy sheep and goats mixed stock farming. *Vet Parasitol* 2013; 198(3-4): 387-90.

Dubey JP, Carpenter JL, Speer CA, Topper MJ, Uggla A. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1988; 192(9): 1269-1285.

Dubey JP, Morales JA, Villalobos P, Lindsay DS, Blagburn BL, Topper MJ. Neosporosis-associated abortion in a dairy goat. *J Am Vet Med Assoc* 1996; 208(2): 263-265.

Faria EB, Gennari SM, Pena HF, Athayde AC, Silva ML, Azevedo SS. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in goats slaughtered in the public slaughterhouse of Patos city, Paraíba State, Northeast region of Brazil. *Vet Parasitol* 2007; 149: 126-129.

Figliuolo LPC, Rodrigues AAR, Vianab RB, Aguiara DM, Kasaia N, Gennari SM. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in goat from São Paulo State, Brazil. *Small Ruminant Res* 2004; 55 (1–3): 29–32.

García-Bocanegra I, Cabezón O, Pabón M, Gómez-Guillamón F, Arenas A, Alcaide E et al. Prevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* antibodies in Spanish ibex (*Capra pyrenaica hispanica*). *Vet J* 2012; 191(2): 257-60.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. IBGE. 2013. [cited 2015 Nov 07]. Available from: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2013/default_pdf.shtm.

Iovu A, Györke A, Mircean V, Gavrea R, Cozma V. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dairy goats from Romania. *Vet Parasitol* 2012; 186(3-4): 470-4.

Lima JTR, Ahid SMM, Barreto Junior RA, Pena HFJ, Dias RA, Gennari SM. Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* e anti-*Neospora caninum* em rebanhos caprinos do município de Mossoró, Rio Grande do Norte. *Braz Vet Res Anim Sci* 2008; 45(2): 81-86.

Liu ZK, Li JY, Pan H. Seroprevalence and risk factors of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in small ruminants in China. *Prev Vet Med* 2015; 118 (4): 488-92.

Modolo JR, Stachissini AVM, Gennari SM, Dubey JP, Langoni H, Padovani CR et al. Frequência de anticorpos anti- *Neospora caninum* em soros de caprinos do estado de São Paulo e sua relação com o manejo dos animais. *Pesq Vet Bras* 2008; 28 (12): 597-600.

Moreno B, Collantes-Fernández E, Villa A, Navarro A, Regidor-Cerrillo J, Ortega-Mora LM. Occurrence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* infections in ovine and caprine abortions. *Vet Parasitol* 2012; 187(1-2): 312-8.

Moore DP. Neosporosis in South America. *Vet Parasitol* 2005; 127: 87–97.

Moraes LM, Raimundo JM, Guimarães A, Santos HA, Macedo Junior Gde L, Massard CL et al. Occurrence of anti-*Neospora caninum* and anti-*Toxoplasma gondii* IgG antibodies in goats and sheep in western Maranhão, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet* 2011; 20(4): 312-7.

Nasir A, Ashraf M, Khan MS, Javeed A, Yaqub T, Avais M, Reichel MP. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies in sheep and goats in Pakistan. *J Parasitol* 2012; 98(1): 213-5

Pinheiro RR, Gouveia AMG, Alves FSF, Haddad JPA. Aspectos epidemiológicos da caprinocultura cearense. *Arq Bras Med Vet e Zootec* 2000; 52(5): 534-543.

Silva MS, Uzêda RS, Costa KS, Santos SL, Macedo AC, Abe-Sandes K et al. Detection of *Hammondia heydorni* and related coccidia (*Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*) in goats slaughtered in Bahia, Brazil. *Vet Parasitol* 2009; 162(1-2): 156-9.

Tembue AA, Ramos RA, de Sousa TR, Albuquerque AR, da Costa AJ, Meunier IM et al. Serological survey of *Neospora caninum* in small ruminants from Pernambuco State, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet* 2011; 20(3): 246-248.

Thrusfield M. *Veterinary Epidemiology*. London: Blackwell Science Ltd., 1995.

Topazio JP, Weber A, Camillo G, Vogel FF, Machado G, Ribeiro A et al. Seroprevalence and risk factors for *Neospora caninum* in goats in Santa Catarina state, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet* 2014; 23(3): 360-6.

Unzaga JM, Moré G, Bacigalupe D, Rambeaud M, Pardini L, Dellarupe A et al. *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in goat abortions from Argentina. *Parasitol Int* 2014; 63(6): 865-7.

Uzêda RS, Pinheiro AM, Fernández SY, Ayres MCC, Gondim LFP, Almeida MAO. Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy goats from Bahia, Brazil. *Small Rumin Res* 2007; 70: 257-259.

Varaschin MS, Guimarães AM, Hirsch C, Mesquita LP, Abreu CC, Rocha CMBM. Fatores associados a soroprevalência de *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em rebanhos caprinos na região sul de Minas Gerais. *Pesq Vet Bras* 2011; 31(1): 53-58.

Figure 1. Geographical illustration of serologic occurrence of *Neospora caninum* in goats from Brazil based referenced data. Geographic Information System, Quantum GIS, Version 2.8 WIEN.

Figure 2. Geographical locations of farms (dairy and beef) used in the study and limits of the climate in Paraíba, Northeast, Brazil.

Table 1. Seroprevalence of *Neospora caninum* in eight different goat farms from Paraíba State, Northeastern Brazil and correspondent testing of risk factors.

Farm	Purpose	<i>N. caninum</i> (IFA)				
		+/n	(%)	OR	95% CI	p-value
Algodão	Dairy	29/46	63.04	29.0000	7.83-107.40	0.00000
Caturité I	Dairy	17/51	33.33	8.5000	2.31-31.24	0.00030
Caturité II	Dairy	13/50	26.00	5.9730	1.59-22.47	0.00390
Gurjão	Dairy	10/45	22.22	4.8571	1.25-18.92	0.01450
Serra Branca	Dairy	2/61	3.28	1.7353	0.28-10.79	0.55010
Cuité	Beef	20/49	40.82	11.7241	3.21-42.86	0.00002
Olivedos	Beef	12/50	24.00	5.3684	1.41-20.36	0.00740
Juarez*	Beef*	3/54	5.56			
Age	>1	87/340	25.59	1.17	0.65-2.11	0.58810
	≤1	19/66	28.79			
Gender	Female	93/371	25.07	0.5661	0.27-1.16	0.12000
	Male	13/35	37.14			
Abortion	Yes	89/355	25.07	0.6692	0.35-1.25	0.20900
	No	17/51	33.33			
Mummified fetuses	Yes	13/50	26.00	0.9936	0.51-1.95	0.98510
	No	93/356	26.12			

+, Number of positive animals; n, number of samples; 95% CI, 95% confidence interval.* Reference goat farm

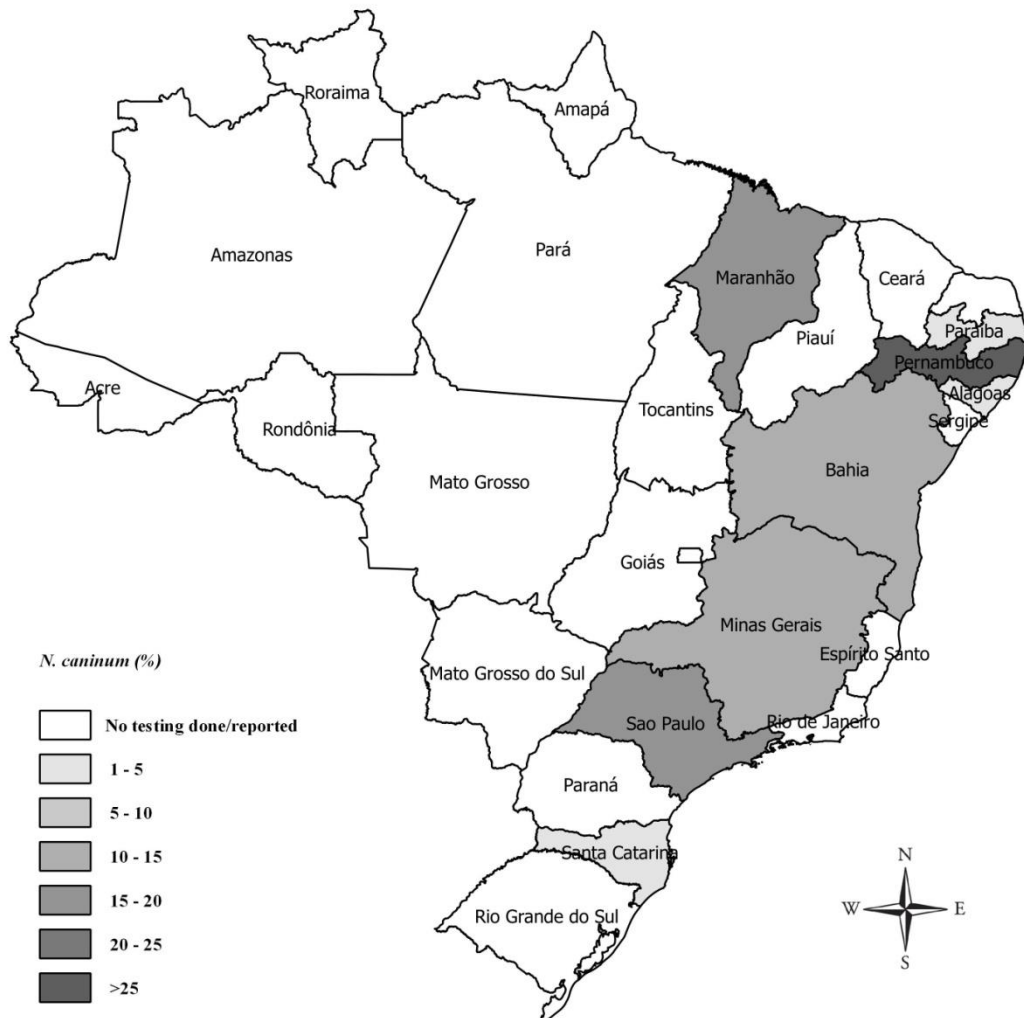


Figure 1. Geographical illustration of serologic occurrence of *Neospora caninum* in goats from Brazil based referenced data. Geographic Information System, Quantum GIS, Version 2.8 WIEN. 161x157mm (300 x 300 DPI).

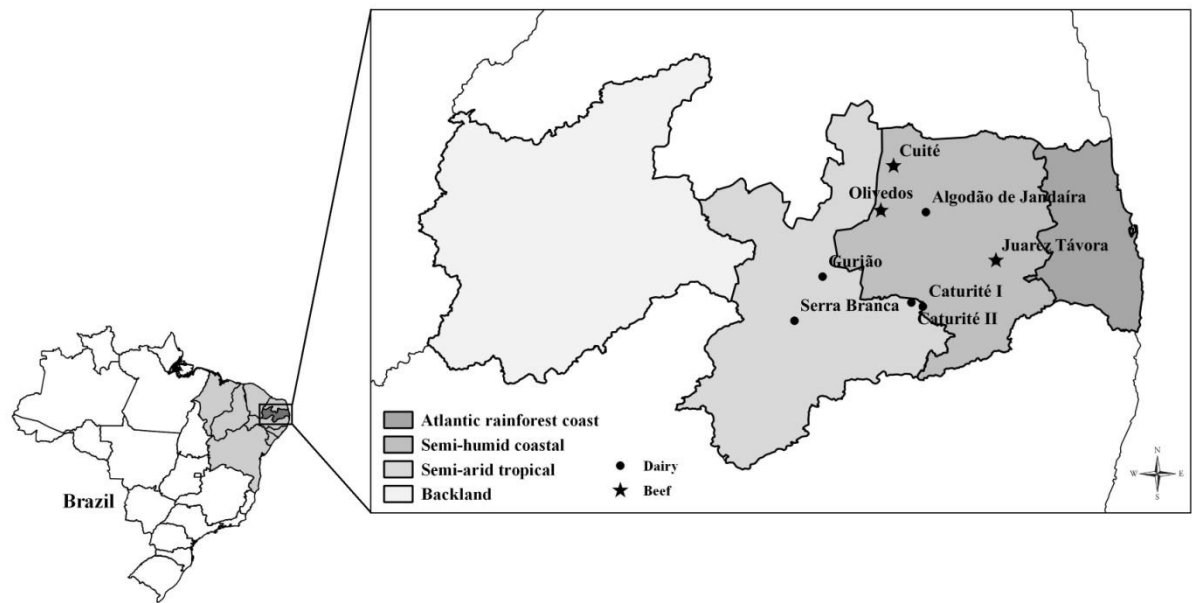


Figure 2. Geographical locations of farms (dairy and beef) used in the study and limits of the climate in Paraíba, Northeast, Brazil. 294x156mm (300 x 300 DPI).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo promoveu a investigação da soroprevalência de *Neospora caninum* em caprinos de propriedades rurais situadas em sete municípios do Estado da Paraíba, através da técnica sorológica de Reação de Imunofluorescência Indireta a partir de amostras de sangue.

Levando em consideração o caráter reprodutivo desta enfermidade, capaz de causar grandes perdas econômicas, a prevalência de 26,11% verificada neste estudo demonstra a necessidade de mais pesquisas envolvendo esse agente e seus fatores de risco, bem como de aprofundamento na dinâmica da doença nessa espécie, já que se mostra capaz de apresentar os mesmos sinais clínicos que os bovinos e uma alta prevalência, além de informação e conscientização aos produtores de caprinos acerca da importância de se desenvolverem estratégias de prevenção e controle eficientes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERLINI, G.A. et al. Prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em caprinos no estado de Alagoas, Brasil. **Veterinária e Zootecnia**, v.18, n.4, p.583-590, 2011.
- ANDERSON, M. L. et al. Evaluation of abortions in cattle attributable to neosporosis in selected dairy herds in California. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 207, n. 9, p. 1206-1210, 1995
- ANDERSON, M.L. et al. Evidence of vertical transmission of *Neospora sp.* Infection in dairy cattle. **Journal of The American Veterinary Medical Association**, v.210, p.1169-1172, 1997.
- ANDRADE, G. D. S. Soroprevalência e fatores associados à infecção por *Neospora caninum* em ovinos e caprinos no Estado de Minas Gerais, Brasil. 2011. 70f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras. 2011.
- ANDRADE, G.D.S.et al. Seroprevalence for *Neospora caninum* in goats of Minas Gerais state, Brazil. **Res Vet Sci**; 94(3): 584-6. 2013.
- ATKINSON, R. et al. Progress in the Serodiagnosis of *Neospora caninum* Infections of Cattle. **Parasitology Today**, v. 16, n. 3, p. 110–114, 2000.
- BARR, B.C., ANDERSON, M.L., DUBEY, J.P., CONRAD, P.A. *Neospora*-like protozoal infections associated with bovine abortions. **Vet. Pathol.** 28, 110–116, 1991.
- BARR, B. C. et al. *Neospora*-Like Protozoal Infections Associated with Abortion in Goats. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 4, n. 3, p. 365–367, 1992.
- BASSO, W.; VENTURINI, L.; VENTURINI, M.C., et al. First isolation of *Neospora caninum* from the feces of a naturally infected dog. **J Parasitol** 87: 612-618, 2001.
- BJERKAS, I.; JENKINS, M. C.; DUBEY, J. P. Identification and characterization of

Neospora caninum tachyzoite antigens useful for diagnosis of neosporosis. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 1, n. 2, p. 214–221, 1994.

BJÖRKMAN, C.; UGGLA, A. Serological diagnosis of *Neospora caninum* infection. **Int. J. Parasitol.**; 29(10): 1497-1507, 1999.

BUXTON, D. et al. The pathogenesis of experimental neosporosis in pregnant sheep. CENTER FOR HISTORY AND NEW MEDIA. **Guia de Início Rápido**. Disponível em: <http://zotero.org/support/quick_start_guide>.

CONTINI, E.; GASQUES, J.G. Projeções do agronegócio da caprinocultura e da ovinocultura no Brasil. In: SEMANA DA CAPRINOCULTURA E DA OVINOCULTURA BRASILEIRAS, 5., 2006, Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte; Embrapa Caprinos. Seção de palestras. 14 f.

CORBELLINI, L. G.; COLODEL, E. M.; DRIEMEIER, D. Granulomatous Encephalitis in a Neurologically Impaired Goat Kid Associated with Degeneration of *Neospora Caninum* Tissue Cysts. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 13, n. 5, p. 416–419, 2001.

COSTA, H. F. et al. Reproductive failures associated with antibodies against caprine arthritis-encephalitis virus, *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in goats in the state of Sao Paulo, Brazil. **Braz J Vet Res Anim Sci**. 49(1): 67-72; 2012.

DAVIDSON, H. C.; OTTER, A.; TREES, A. J. Estimation of vertical and horizontal transmission parameters of *Neospora caninum* infections in dairy cattle. **The International Journal for Parasitology**, v. 29, p. 1683-1689, 1999.

DIAKOU, A. et al. *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* seroprevalence in dairy sheep and goats mixed stock farming. **Veterinary Parasitology**, v. 198, n. 3-4, p. 387–390, 2013.

DUBEY, J.P. et al. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. **J. Am. Vet. Med. Assoc**. 192, 1269–1285, 1988.

DUBEY, J.P.; ACLAND, H.M.; HAMIR A.N. *Neospora caninum* (Apicomplexa) in a stillborn goat. **J. Parasitol.** 78, 532–534, 1992.

DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. **Veterinary Parasitology**, v.67, p.1-59, 1996.

DUBEY, J.P. Recent advances in *Neospora* and neosporosis. **Vet Parasitol** 84: 349-367. 1999.

DUBEY, J.P.; et al. Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidia. **Int. J. Parasitol.** 32, 929–946, 2002.

DUBEY, J. P. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. **The Korean Journal of Parasitology**, Seoul, v. 41, n. 1, p.1-16, 2003.

DUBEY, J. P et al. *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, *Sarcocystis neurona*, and *Sarcocystis canis*-like infections in marine mammals. **Veterinary Parasitology**, Amsterdã, v. 116, n. 4, p. 275-296, 2003.

DUBEY, J.P. et al. Biologic, morphologic, and molecular characterisation of *Neospora caninum* isolates from littermate dogs. **Int. J. Parasitol.** 34, 1157–1167, 2004.

DUBEY, J.P.; SCHARES, G. Diagnosis of bovine neosporosis. **Vet. Parasitol.**140, 1–34, 2006.

DUBEY, J. P.; SCHARES, G.; ORTEGA-MORA, L. M. Epidemiology and Control of Neosporosis and *Neospora caninum*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 20, n. 2, p. 323–367, 2007.

DUBEY, J. P. et al. Gray wolf (*Canis lupus*) is a natural definitive host for *Neospora caninum*. **Veterinary Parasitology**, Amsterdã (Article in Press), 2011.

DUBEY, J. P.; SCHARES, G. Neosporosis in animals—The last five years. **Veterinary Parasitology**, Amsterdã, v. 180, n. 1-2, p. 90-108, 2011.

FAO. 2011. **The State of the World's Land and Water Resources for Food and Agriculture**. Managing systems at risk. Rome.

FARIA, E. B. et al. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in goats slaughtered in the public slaughterhouse of Patos city, Paraíba State, Northeast region of Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 149, n. 1-2, p. 126–129, 2007.

FIGLIUOLO, L.P.C.; RODRIGUES, A.A.R.; VIANA, R.B.; AGUIARA, D.M.; KASAIA, N.; GENNARI, S.M. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in goat from São Paulo State, Brazil. **Small Ruminant Res.** 55 (1–3): 29–32, 2004.

FUCHS, N.; SONDA, S.; GOTTSTEIN, B., HEMPHILL, A. Differential expression of cell surface-and dense granule-associated *Neospora caninum* proteins in tachyzoites and bradyzoites. **Journal of Parasitology**, v.84, p.753-758, 1998.

GHALMI, F. et al. Comparison of different serological methods to detect antibodies specific to *Neospora caninum* in bovine and canine sera. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, p. 1040638713515480, 2014.

GONDIM, L.F.P. et al. Isolation of *Neospora caninum* from the brain of a naturally infected dog and production of encysted bradyzoites in gerbils. **Vet Parasitol** 101: 1-7, 2001.

GONDIM, L.F.P.; MCALLISTER, M.M.; PITT, W.C.; ZEMLICKA, D.E. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. **Int. J. Parasitol.** 34, 159–161, 2004.

GOTTSTEIN, B.; Molecular and immunodiagnostic investigations on bovine neosporosis in Switzerland. **International Journal of Parasitology**, v. 28, n.4, p.679-691, 1998.

HADDAD, J.P. A.; DOHOO, I.R.; VANLEEWEN, J.A. A review of *Neospora caninum* in dairy and beef cattle: A Canadian perspective. **Can. Vet. J.** v.46, p. 230-243, 2005.

HEMPHILL, A., GOTTSTEIN, B., KAUFMANN, H. Adhesion and invasion of bovine endothelial cells by *Neospora caninum*. **Parasitology**, v.112, p.183-197, 1996.

HEMPHILL, A., GAJENDRAN, N., SONDA, S., Identification and characterisation of a dense granule-associated protein in *Neospora caninum* tachyzoites. **International Journal for Parasitology**, v.28, p.429-438, 1998.

HEMPHILL, A. et al. The antigenic composition of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v. 29, n. 8, p. 1175–1188, 1999.

IBGE. PESQUISA trimestral do abate de animais 2013. In: IBGE. *Sidra: sistema IBGE de recuperação automática*. Rio de Janeiro, 2014. tab. 1092. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/acervo/acervo9.asp?e=c&p=AX&z=t&o=24>>. Acesso em: ago. 2015.

INNES, E. A. et al. Protection against vertical transmission in bovine neosporosis. **International Journal for Parasitology**, v. 31, n. 13, p. 1523–1534, 2001.

KING, J. S. et al. Australian dingoes are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, Nova Iorque, v.40, n. 8, p. 945-950, 2010.

LIMA, J. T. R. et al. Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* e anti-*Neospora caninum* em rebanhos caprinos do município de Mossoró, Rio Grande do Norte. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 45, n. 2, p. 81-86, 2008.

LINDSAY, D. S.; DUBEY, J. P.; DUNCAN, R. B. Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. **Veterinary Parasitology**, Amsterdã, v. 82, n. 4, p. 327-333, maio, 1999.

MCALLISTER, M.M. et al. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. **Int. J. Parasitol.** 28, 1473–1478, 1998.

MCCANN, C.M. et al. Lack of serologic evidence of *Neospora caninum* in humans. **Engl. Emerg. Infect. Dis.** 14, 978–980, 2008.

MODOLO, J. R. ET AL. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em soros de caprinos do estado de São Paulo e sua relação com o manejo dos animais. 2008. Disponível em: <<http://ac.els-cdn.com.ez15.periodicos.capes.gov.br/S002075199800006X/1-s2.0>>

S002075199800006X-main.pdf?_tid=1c9e8ad2-5bf0-11e5-9c7a00000aacb35f&acdnat=1442352433_b15e7ad74d087a654449d97fccc6a874>.

Acesso em: 15 de set. de 2015.

MORAES, L. M. et al. Occurrence of anti-*Neospora caninum* and anti-*Toxoplasma gondii* IgG antibodies in goats and sheep in western Maranhão, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 20, n. 4, p. 312- 327, 2011.

NOGUEIRA FILHO, A.; KASPRZYKOWSKI, J. W. A. O agronegócio da caprinovincultura no Nordeste brasileiro. Fortaleza: BNB; 54 p. 2006

PARÉ, J.; HIETALA, S.K.; THURMOND, M.C. Interpretation of an indirect fluorescent antibody test for diagnosis of *Neospora* sp. infection in cattle. **J. Vet. Diagn. Invest.** 7, 273–275, 1995.

PINHEIRO, R.R.; GOUVEIA, A.M.G.; ALVES, F.S.F.; HADDAD, J.P.A. Aspectos epidemiológicos da caprinocultura cearense. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.52, n.5, p.534-543, 2000.

SILVA, M. S. et al. Detection of *Hammondia heydorni* and related coccidia (*Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*) in goats slaughtered in Bahia, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 162, p. 156-159, 2009.

SOARES, R.M.; LOPES, E.G.; KEID, L.B.; SERCUNDES, M.K.; MARTINS, J.; RICHTZENHAIN, L.J. Identification of *Hammondia heydorni* oocysts by a heminested-PCR (hnPCR-AP10) based on the *H. heydorni* RAPD fragment AP10. **Vet. Parasitol.** 175, 168–172, 2011.

SOUZA NETO, J., BAKER, G.A., SOUSA, F.B. Caprinocultura de duplo propósito no Nordeste do Brasil: avaliação do potencial produtivo. **RELATÓRIO TÉCNICO DO CENTRO NACIONAL DE PESQUISA DE CAPRINOS** 1987-1995, p.210-212, 1996.

STENLUND, S. et al. Serum antibody profile and reproductive performance during two consecutive pregnancies of cows naturally infected with *Neospora caninum*. 2014.

Disponível

em:

<<http://vdi.sagepub.com.ez15.periodicos.capes.gov.br/content/26/1.toc>>. Acesso em:

28 de set. de 2015.

TAUBERT, A. KRÜLL, M.; ZAHNER, H.; HERMOSILLA, C. *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections of bovine endothelial cells induce endothelial adhesion molecule gene transcription and subsequent PMN adhesion. **Vet Immunol. Immunopathol.** 112(3-4): 272-83, 2006.

TEMBUE A.A.S.M.; RAMOS R.A.N.; SOUSA T.R. et al. Serological survey of *Neospora caninum* in small ruminants from Pernambuco State, Brazil. **Rev Bras Parasitol Vet**; 20(3): 246-248, 2011.

THURMOND, M.C.; HIETALA, S.K. Effect of congenitally acquired *Neospora caninum* infection on risk of abortion and subsequent abortions in dairy cattle. **Am. J. Vet. Res.** 58, 1381–1385, 1997.

TOPAZIO, J.P. et al. Seroprevalence and risk factors for *Neospora caninum* in goats in Santa Catarina state, Brazil. **J. Vet. Parasitol.** v. 23, n. 3, p. 360-366, 2014.

TREES, A. J.; WILLIAMS, D. J. L. Endogenous and exogenous transplacental infection in *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. **Trends in Parasitology**, v. 21, n. 12, p. 558–561, 2005.

UZÊDA, R.S.; PINHEIRO, A.M.; FERNÁNDEZ, S.Y. et al. Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy goats from Bahia, Brazil. **Small Rumin Res.**;70:257-9, 2007.

WOUDA, W.; DIJKSTRA, T.; KRAMER, A.M.; VAN MAANEN, C.; BRINKHOF, J.M. Seroepidemiological evidence for a relationship between *Neospora caninum* infections in dogs and cattle. **Int. J. Parasitol.** 29, 1677–1682, 1999.